

Multi-stage cascade boosting vaccine

Publication number: JP10503758T

Publication date: 1998-04-07

Inventor:

Applicant:

Classification:






- international: C12N15/09; A61K35/14; A61K35/26; A61K38/00; A61K38/21; A61K39/395; A61K39/44; A61K48/00; A61P31/04; A61P35/00; A61P37/04; C07K16/30; C07K16/42; C07K16/46; C12N5/10; C12P21/08; C12N15/09; A61K35/14; A61K35/26; A61K38/00; A61K38/21; A61K39/395; A61K39/44; A61K48/00; A61P31/00; A61P35/00; A61P37/00; C07K16/18; C07K16/42; C07K16/46; C12N5/10; C12P21/08; (IPC1-7): A61K39/395; A61K38/00; A61K38/21; A61K39/395; A61K39/44; C12N5/10; C12N15/09; C12P21/08

- European: A61K35/14; A61K39/395C3; A61K39/395C4; C07K16/30A; C07K16/42K; C07K16/42K14B1

Application number: JP19960503926T 19950706

Priority number(s): WO1995US08222 19950706; US19940268129 19940706

Also published as:

 WO9601126 (A1)
 EP0768894 (A1)
 US6926893 (B1)
 US6132718 (A1)
 US5798100 (A1)

more >>

[Report a data error here](#)

Abstract not available for JP10503758T

Abstract of corresponding document: **US6132718**

Humoral and cellular immune responses against tumor cells and infectious agents are induced in a mammal using a vaccine comprising antibodies and anti-idiotypic antibodies that mimic an epitope of antigen that is associated with a tumor or infectious agent. Antibodies and cytokines also may be used to amplify the immune cascade. Moreover, antibodies and anti-idiotypic antibodies can be used to produce T cells that are not MHC-restricted and that are targeted to tumor cells and infectious agents.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

特表平10-503758

(43) 公表日 平成10年(1998) 4月7日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 39/395	E
38/00			D
38/21			T
39/395			N
		39/44	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 53 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平8-503926	(71) 出願人	イムノメディクス, インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成7年(1995) 7月6日		アメリカ合衆国、 07950 ニュー・ジャ
(85) 翻訳文提出日	平成9年(1997) 1月6日		ージー、モリス・ブレインズ、アメリカ
(86) 国際出願番号	P C T / U S 9 5 / 0 8 2 2 2		ン・ロード 300
(87) 国際公開番号	W O 9 6 / 0 1 1 2 6	(72) 発明者	ハンセン, ハンス・ジェイ
(87) 国際公開日	平成8年(1996) 1月18日		アメリカ合衆国、 08087 ニュー・ジャ
(31) 優先権主張番号	0 8 / 2 6 8 , 1 2 9		ージー、ミスティック・アイランド、ノー
(32) 優先日	1994年7月6日		ス・バージー・ドライヴ 2617
(33) 優先権主張国	米国 (U S)	(74) 代理人	弁理士 奥山 尚男 (外3名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 多段カスケード型追加免疫ワクチン

(57) 【要約】

抗体、および、腫瘍または感染性生物に関連した抗原のエピトープとよく似る抗イディオタイプ抗体を含むワクチンによって、腫瘍細胞または感染性生物に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答が誘導される。抗体およびサイトカインを用いて免疫カスケードを増幅することができる。さらに、抗体および抗イディオタイプ抗体を用いて、MHCに制限されずに、腫瘍細胞や感染性生物を標的とするT細胞を産生することもできる。

【特許請求の範囲】

1. (a) 腫瘍関連抗原 (TAA) または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 該TAAまたは該感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第二のワクチンを該哺乳動物に投与するステップと

を含む腫瘍関連抗原 (TAA) を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

2. 上記ステップ (a) の抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗体と、

(d) (a)、(b) または (c) に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる請求項1に記載の方法。

3. 該抗体フラグメントが $F(a b')_2$ 、 $F(a b)_2$ 、 $F a b'$ 、 $F a b$ 、 $F v$ 、 $s F v$ 、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項2に記載の方法。

4. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

(a) ポリクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体と、

(c) (b) に由来するヒト化抗体と、

(d) ヒト・モノクローナル抗体と、

(e) 類人霊長類抗体と、

(f) (a)、(b)、(c)、(d) または (e) に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる請求項1に記載の方法。

5. 該抗体フラグメントがF (a b')₂、F (a b)₂、F a b'、F a b、F v、s F v、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項4に記載の方法。

6. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターフェロン γ を投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

7. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターロイキン2を投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

8. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターロイキン2およびインターフェロン γ を同時投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

9. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しているワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質とは複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

10. 上記ステップ(b)の抗体または抗体フラグメントがビオチンと複合し、上記方法が、

(c) アビジンを投与して該ビオチン化抗体または該ビオチン化抗体フラグメントの循環濃度を低下させるステップ

をさらに含む請求項9に記載の方法。

11. 上記方法が、

(d) 上記ステップ(a)のワクチンの第二回投与を行うステップ
をさらに含む請求項10に記載の方法。

12. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターフェロン γ を投与するステップ
をさらに含む請求項11に記載の方法。

13. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターロイキン2を投与するステップ
をさらに含む請求項11に記載の方法。

14. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターロイキン2およびインターフェロン γ を同時投与するステップ
をさらに含む請求項11に記載の方法。

15. (a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、該DNA分子の

該免疫グロブリンをコードしている部分がTAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体の可変部をコードしている発現ベクターをT細胞に導入し、トランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) 該トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加した該トランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻すステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

16. 上記方法が、

(e) 該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、インターフェロン γ およびインターロイキン2からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種を投与するステップと、

(f) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップと

をさらに含む請求項15に記載の方法。

17. 上記方法が

(e) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップ

をさらに含む請求項15に記載の方法。

18. (a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、該DNA分子の該免疫グロブリンをコードしている部分がTAAのエピープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗体の変換部をコードしている発現ベクターをT細胞に導入してトランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) 該トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加した該トランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻すステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

19. 上記方法が、

(e) 該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、インターフェロン

γおよびインターロイキン2からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種を投与するステップと、

(f) 該キメラ免疫グロブリン／T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン／CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップとをさらに含む請求項18に記載の方法。

20. 上記方法が、

(e) 該キメラ免疫グロブリン／T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン／CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップをさらに含む請求項18に記載の方法。

21. 製薬的に許容できる担体、および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合

している治療有効量の抗癌胎児性抗原（CEA）抗体成分を含む、癌胎児性抗原（CEA）を発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチン。

22. 該抗CEA抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体と、

(b) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、

(d) (a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントとからなる群から選ばれる請求項21に記載のワクチン。

23. 該抗体フラグメントがF(a b')₂、F(a b)₂、F a b'、F a b、F v、s F v、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項22に記載のワクチン。

24. 製薬的に許容できる担体、および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合していて、CEAのエピトープとよく似ている、治療有効量の抗イディオタイプ抗体成分を含む、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチン。

25. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

- (a) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するポリクローナル抗体と、
 - (b) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するモノクローナル抗体と、
 - (c) (b) に由来するヒト化抗体と、
 - (d) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する類人霊長類抗体と、
 - (e) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、
 - (f) (a)、(b)、(c)、(d) または (e) に由来する抗体フラグメントと
- からなる群から選ばれる請求項24に記載のワクチン。

26. 該抗体フラグメントがF(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、sFv、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項25に記載のワクチン。

27. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質と複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと、

(c) 該TAAまたは該感染性生物抗原のエピトープによく似ている、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含む第二のワクチンを該哺乳動物に投与するステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

28. 該第一のワクチンがクラスIII抗CEA抗体を含み、ステップ(b)の該抗体がクラスIII抗CEA抗体であり、該第二のワクチンがクラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する抗体を含む請求項27に記載の方法。

29. 結合する部分を有する二重特異性抗体を患者に投与するステップを含む、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療方法。

【発明の詳細な説明】

多段カスケード型追加免疫ワクチン

技術分野

本発明は悪性細胞および感染性生物に対する体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法に関する。より詳しくは、本発明は抗体、および腫瘍または感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体を用いて、腫瘍細胞または感染性生物に対する一体化した免疫応答を生み出す方法に関する。さらに、本発明は抗体およびサイトカインを用いて、この一体化した応答を増強する方法に関する。さらにまた、本発明はMHCに制限されない、腫瘍関連抗原または感染性生物関連抗原を標的とするT細胞を産生する方法に関する。

背景技術

免疫療法の主要目標の一つは、腫瘍細胞または感染性生物に対して患者の免疫系を利用することにある。癌療法は正常細胞を標的とすることなく、腫瘍細胞に関連する抗原のみを標的として、患者の免疫系を腫瘍細胞に向けることを目的としている。この腫瘍関連抗原(TAA)は、これまで同定することが難しかった。しかしながら、ある種の腫瘍細胞は、成人では通常全く発現しないか、発現しても発現度が極めて低い、胎児の発生中には存在する抗原を発現する。この腫瘍胎児性TAAの一つの例が肝臓癌細胞によって発現される α フェトプロテインである。もう一つの腫瘍胎児性TAAとして、内胚葉由来の消化系上皮のほとんどの腺癌、ならびに乳房腫瘍細胞と非小細胞型肺癌細胞によって発現される癌胎児性抗原(CEA)がある。Thomas et al., Biochim. Biophys. Acta 1032:177 (1990)を参照されたい。

癌免疫療法では、TAAによく似る抗イディオタイプ抗体(Ab2)の投与が

最も有望な方法の一つである。Goldenberg, Amer. J. Med. 94:297 (1993)を参照されたい。Ab2は、通常用いられる抗体(Ab1)の可変部に対する抗体である。Ab2と抗原とはAb1の結合部位の同一領域と結合することができる。したがって、あるAb2(「Ab2 β 」または「内部写像(internal image)」抗体と命名する)は、この名目上

の抗原 (nominal antigen) の立体構造によく似る。Jerne et al., EMBO J. 1:243 (1982)、Losman et al., Int. J. Cancer 46:310 (1990)、Losman et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 88:3421 (1991)、Losman et al., Int. J. Cancer 56:580 (1994) を参照されたい。Ab 2 β で免疫された個体は、抗体に対する抗体の抗体 (Ab 3) を持つようになり、その一部 (Ab 1') が名目上の抗原と結合することができるのである。

抗イディオタイプ抗体が抗原によく似るという特性があることから、名目上の抗原が直ちに手に入らない場合、あるいは宿主が名目上の抗原に寛容性を持つ場合、Ab 2 β を代理抗原 (surrogate antigen) (すなわち、抗イディオタイプ・ワクチン) として使用するようになった。実験系で、あるTAAによく似るAb 2 β で免疫すると、このTAAに対する特異的な免疫が生じ、その後の腫瘍の増殖を防ぐようになる。例えば、Nepom et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 81:2864 (1984)、Raychaudhuri et al., J. Immunol. 139:271 (1987) を参照されたい。同様にして、肺炎球菌 (Streptococcus pneumoniae) [McNamara et al., Science 226:1325 (1984)]、B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus) [Kennedy et al., Science 223:930 (1984)]、大腸菌 K13 (Escherichia coli K13) [Stein et al., J. Exp. Med. 160:1001 (1984)]、Schistosomiasis mansoni [Kresina et al., J. Clin. Invest. 83:912 (1989)] およびモロニーマウス肉腫ウイルス [Powell et al., J. Immunol. 142:1318 (1989)] などの感染性生物に対する抗イディオタイプ・ワクチンが開発された。

癌患者に動物由来の抗TAA抗体を投与すると、通常はAb 1に対する抗体類

が産生され、これらの抗免疫グロブリン抗体中にAb2が含まれている。Herylyn et al., J. Immunol. Methods 85:27 (1985)、Traub et al., Cancer Res. 48:4002 (1988)を参照されたい。また、この抗イディオタイプ反応は、T細胞(T2)の産生を含む。Fagerberg et al., Cancer Immunol. Immunother. 37:264 (1993)を参照されたい。さらに、Ab2は、引き続き体液性および細胞性の抗イディオタイプに対する反応、つまり、それぞれAb3およびT3の産生を誘導する。このAb3およびT3は、Ab1と同じエピトープを認識する。前掲と同じ。

したがって、免疫療法としてこの体液性免疫系および細胞性免疫系を利用する方法を提供することができる。これまでに本出願人は腫瘍細胞ならびに感染性生物に対する一体化された応答を刺激する方法を開発した。さらに本出願人は免疫カスケードを増幅する方法も開発した。

発明の要旨

したがって本発明の目的は、抗体および腫瘍関連抗原または感染性生物に関連した抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体を用いて、腫瘍および感染性生物に対する体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法を提供することにある。本発明の他の目的は、抗体およびサイトカインを用いてこの一体化された応答を増幅する方法を提供することにある。

本発明のさらに他の目的は、腫瘍関連抗原または感染性生物に関連した抗原を発現する細胞を標的とするT細胞を産生する方法を提供することにある。このT細胞を用いて、腫瘍細胞または感染性生物に対する免疫応答をさらに増幅することができる。

これらの目的および他の目的は、本発明の一実施例により、腫瘍関連抗原(TAA)を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法であって、

(a) TAA、または感染性生物に関連する抗原と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含む第一のワクチンを哺乳動物に投与す

るステップと、

(b) TAAまたは感染性生物抗原のエピトープとよく似ていて、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含む第二のワクチンを哺乳動物に投与するステップと

を含む方法を提供することにより達成することができる。

ステップ(a)の抗体成分は、(a)マウス・モノクローナル抗体と、(b)マウス・モノクローナル抗体から誘導されたヒト化抗体と、(c)ヒト・モノクローナル抗体と、(d)これらの(a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントとからなる群から選ばれる。この抗体フラグメントはF(a b')₂、F(a b)₂、F a b'、F a b、Fv、s Fvおよび最少認識単位からなる群から選ばれる。

さらにステップ(b)の抗イディオタイプ抗体成分は、(a)ポリクローナル抗体と、(b)マウス・モノクローナル抗体と、(c)この(b)に由来するヒト化抗体と、(d)ヒト・モノクローナル抗体と、(e)類人霊長類の抗体と、(f)これらの(a)、(b)、(c)、(d)または(e)に由来する抗体フ

ラグメントとからなる群から選ばれる。この抗体フラグメントはF(a b')₂、F(a b)₂、F a b'、F a b、Fv、s Fvおよび最少認識単位からなる群から選ばれる。

本発明はさらに、(c)第二のワクチンの投与前および投与中にインターフェロン γ またはインターロイキン2を投与するステップをさらに含む方法に関する。代わりに、ワクチンの投与前および投与中にインターフェロン γ およびインターロイキン2を同時投与してもよい。

本発明はまた、次のステップからなるTAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法であって、

(a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含むワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しておらず、TAAまたは感染性生物関連抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと

を含む方法を意図している。

本発明はさらに、上記のステップ (b) の抗体または抗体フラグメントがビオチンと複合していて、(c) アビジンを投与してビオチン化抗体またはビオチン化抗体フラグメントの循環濃度を低下させるステップをさらに含む方法に関する。

本発明はさらに、(d) 上記のステップ (a) のワクチンの第二回投与を行うステップをさらに含む方法を意図している。

本発明はさらに、(e) ワクチンの第二回投与前および第二回投与中にインターフェロングammaまたはインターロイキン2を投与するステップをさらに含む方法に関する。代わりに、インターロイキン2とインターフェロングgammaとを、ワクチン投

与前および投与中に同時投与してもよい。

本発明はさらに、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法であって、

(a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、このDNA分子の免疫グロブリンをコードする部分がTAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体の可変部をコードしている発現ベクターをT細胞中に導入して、トランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加したトランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻すステップとを含む方法に関する。

本発明はさらに、(e) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合する抗イディ

、オタイプ抗体を含み、このイディオタイプ抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しているワクチンを患者に投与するステップをさらに含む方法に関する。かわりに、トランスフェクトしたT細胞を戻す時からステップ(e)を実施する時までの間に、インターフェロニンとインターロイキン2とからなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種類を患者に投与してもよい。

本発明はさらに、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対して患者の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法であって、

(a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、このDNA分子

の免疫グロブリンをコードする部分が、TAAのエピトープまたは感染性生物に関連した抗原のエピトープによく似る抗体の可変部をコードしている発現ベクターを該T細胞中に導入して、トランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加したトランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻してやるステップと

を含む方法を意図している。

本発明はさらに、(e) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合する抗体成分を含み、この抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しているワクチンを患者に投与するステップをさらに含む方法に関する。かわりに、トランスフェクトしたT細胞を戻す時からステップ(e)を実施する時までの間に、インターフェロニンとインターロイキン2とからなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種を患者に投与してもよい。

本発明はさらに、製薬的に許容できる担体および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している治療有効量の抗CEA抗体成分を含む、癌胎児性抗原(CEA)を発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチンに関する。抗CEA抗体成分は、

(a) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体と、(b) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体に由来するヒト化抗体と、(c) ヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、(d) これらの(a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントとからなる群から選ばれる。

本発明はさらに、製薬的に許容できる担体、および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合して、CEAのエピトープによく似る治療有効量の抗イディオタイプ抗体成分を含む、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチンに関する。

抗イディオタイプ抗体成分は、(a) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するポリクローナル抗体と、(b) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するモノクローナル抗体と、(c) この(b)に由来するヒト化抗体と、(d) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する類人霊長類抗体と、(e) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、(f) これら(a)、(b)、(c)または(e)に由来する抗体フラグメントとからなる群から選ばれる。

本発明はまた、次のステップからなる、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法であって、

(a) TAAまたは感染性生物に関連した抗原と結合する抗体を含み、この抗体成分は可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しておらず、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと、

(c) TAAまたは感染性生物抗原のエピトープによく似ていて、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体を含む第二のワクチンを哺乳動物に投与するステップとを含む方法を意図している。

この方法では、第一のワクチンはクラスIII抗CEA抗体を含み、ステップ(

b) の抗体はクラスIII抗CEA抗体であり、および第二のワクチンはクラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する抗体を含むことが好ましい。

本発明はさらに、二重特異性抗体を患者に投与するステップを含むCEAを発現する腫瘍を有する患者の治療方法に関する。この二重特異性抗体は、CD3タ

ンパク質と結合する部分とCEAと結合する部分とを有し、CEA結合性部位はクラスIII抗CEA抗体に由来する抗体である。

発明の詳細な説明

1. 定義

下記の説明には、多くの用語が広範に使用されている。したがって、本発明の理解を容易にするため、定義を次のように定める。

構造遺伝子は、伝令RNA (mRNA) に転写された後、特定のポリペプチドを特徴づけるアミノ酸配列に翻訳されるDNA配列である。

プロモーターは、構造遺伝子の転写を指令するDNA配列である。典型的には、プロモーターの位置は、構造遺伝子の転写開始部位に近い、遺伝子の5'領域内にある。プロモーターが誘導プロモーターである場合には、誘導要因に応答して転写速度が早くなる。一方、プロモーターが構成プロモーターである場合には、転写速度は誘導要因によって調節されることはない。

単離DNA分子は、生物のゲノムDNA中に組み込まれていないDNAフラグメントである。例えば、クローニングされたT細胞レセプター遺伝子は、哺乳動物の細胞のゲノムDNAから単離されているDNAフラグメントである。単離DNA分子のもう一つの例として、生物のゲノムDNAに組み入れられていない化学的に合成されたDNA分子を挙げることができる。

エンハンサーは、エンハンサーと転写開始部位との距離や方向に拘らず、転写効率を上げることのできるDNA調節要素である。

相補的DNA (cDNA) は、逆転写酵素によってmRNAテンプレートから形成される一本鎖DNA分子である。典型的には、mRNAの部分に相補的なプライマーが逆転写の開始のために用いられている。当業者は「cDNA」という語を、この一本鎖DNA分子とその相補的DNA鎖からなる二本鎖DNA分子を

指すのにも用いている。

発現という語は、遺伝子産物の生合成を指す。例えば、構造遺伝子の場合、発現とは、構造遺伝子がmRNAに転写されて、mRNAが一以上のポリペプチドに翻訳されることである。

クローニング・ベクターは、宿主細胞中で自律的に複製することができるプラスミド、コスミド、またはバクテリオファージなどのDNA分子である。クローニング・ベクターには、典型的には、一個または少数の制限酵素認識部位があって、ベクターの必須生物機能を損なったり、クローニング・ベクターで形質転換する細胞の同定や選択に使うのに好適なマーカー遺伝子を損なうことなく、同定が可能な形で外来のDNA配列を挿入することができる。マーカー遺伝子には、典型的には、テトラサイクリン耐性やアンピシリン耐性を付与する遺伝子が含まれる。

発現ベクターは、宿主細胞中で発現される遺伝子を含むDNA分子である。遺伝子の発現は、典型的には、構成プロモーターまたは誘導プロモーター、組織特異的調節要素、エンハンサーを含む特定の調節要素によって制御されている。このような遺伝子は、調節要素と「操作可能なように連結」しているという。

組換え宿主は、クローニング・ベクターまたは発現ベクターのどちらかを含有している原核細胞または真核細胞である。この用語には、宿主細胞の染色体またはゲノムがクローニングされた遺伝子を含有するように遺伝子操作された原核細胞または真核細胞を指す場合も含める。

腫瘍関連抗原は、通常では正常な抗原によって発現されていないか、されても発現度がきわめて低いタンパク質のことである。腫瘍関連抗原の例としては、 α フェトプロテインと癌胎児性抗原（CEA）を挙げることができる。

本明細書においては、感染性生物は、微生物および寄生虫の両方を指す。「微生物」には、ウイルス、細菌、リケッチア、マイコプラズマ、原虫、真菌、およびこれらに類似する他の微生物がある。「寄生虫」は、感染性の、一般には顕微

鏡でしか見ることができない、又はきわめて小さな、マラリア原虫、スピロヘー

タなどの多細胞性無脊椎動物、またはその卵や幼虫で、抗体により除去したり、溶菌あるいは食細胞によって分解することができる。

本明細書においては、抗CEA・MAbはPrimus et al., Cancer Research 43:686.(1983) およびPrimus et al. に付与されている米国特許第4,818,709号で説明されているクラスIII MAbを指す。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。

本明細書においては、Ab 1は、腫瘍関連抗原または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体である。

本明細書において、抗イディオタイプ抗体 (Ab 2)は、Ab 1と結合する抗体である。重要なことは、Ab 2はAb 1の可変部に結合するので、Ab 2が腫瘍関連抗原のエピトープ、あるいは感染性生物に関連する抗原のエピロープによく似ることができることである。

抗体フラグメントは、 $F(a b')_2$ 、 $F(a b)_2$ 、 $F a b'$ 、 $F a b$ などの抗体の部分である。抗体フラグメントはどのような構造であっても、完全な抗体が認識するものと同じ抗原と結合する。例えば、抗CEA・MAb (Ab 1) フラグメントは、CEAと結合するが、一方Ab 2フラグメントは、Ab 1の可変部と結合し、かつ、CEAのエピトープによく似たものである。

この「抗体フラグメント」という用語には、特定の抗原と結合して複合体を形成することにより、抗体に似た作用を持つ合成タンパク質または遺伝子操作タンパク質も含めるものとする。例えば、抗体フラグメントには、L鎖可変部からなる単離フラグメント、HおよびL鎖の可変部からなる「Fv」フラグメント、LおよびH鎖の可変部がペプチド・リンカーによって連結されている組換え一本鎖ポリペプチド分子（「s Fvタンパク質」）、および超可変部によく似るアミノ酸残基からなる最少識別単位が含まれている。

ヒト化抗体はマウスMAbの相補性決定領域を、マウス免疫グロブリンのHおよびL可変鎖からヒト可変ドメインに転移させた組換えタンパク質である。

本明細書において、抗体成分という用語には、全抗体と抗体フラグメントの両

方を含めるものとする。

本明細書においては、キメラ免疫グロブリン／T細胞レセプターは、 α および β ポリペプチド鎖の可変部が、抗体(Ab1)または抗イディオタイプ抗体(Ab2)どちらかのHおよびL鎖の可変セグメントによって置換されている機能的なT細胞レセプターである。

本明細書においては、キメラ免疫グロブリン／CD3タンパク質は、CD3ポリペプチドの機能を保持していて、かつ、Ab1またはAb2どちらかのHおよびL鎖の可変セグメントを含む組換えタンパク質である。

2. モノクローナル抗体、ヒト化抗体、霊長類抗体、およびヒト抗体の作製

特定の抗原に対する齧歯類のモノクローナル抗体は、当業者に公知の方法により得ることができる。例えば、Kohler and Milstein, Nature 256:495 (1975)、およびColigan et al., (eds.), CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, VOL. 1, 2. 5. 1-2. 6. 7頁(John Wiley & Sons 1991) [以下、「Coligan」と称す]を参照されたい。このモノクローナル抗体の作製方法を簡単に説明する。マウスに抗原を含む組成物を注射し、血清サンプルを採取して抗体が産生されていることを確認し、脾臓を摘出してBリンパ球を得る。このBリンパ球をミエローマ細胞と融合して、ハイブリドーマをつくる。ハイブリドーマのクローニングを行った後、抗原に対する抗体を産生する陽性の(ポジティブ)クローンを選択する。抗原に対する抗体を産生する陽性のクローンを培養した後、ハイブリドーマ培養物から抗体を単離する。

これまでに腫瘍関連抗原や感染性生物に関連する抗原に対する、極めて多種の

モノクローナル抗体が開発された。例えば、Goldenberg et al., 国際特許出願公告第WO91/11465 (1991)号、およびGoldenberg、国際特許出願公告第WO94/04702 (1994)号を参照されたい。引用することにより、これらの出願各々の全文を本明細書の一部とする。

好適なMabの例としては、クラスIII抗CEA・Mabが挙げられる。CE

Aに対する通常の抗血清には、CEAと密接に関連する一群の物質と反応する抗体が含有されている。この群の主要なCEA関連抗原は、(1)組織分布がCEAに類似する正常交差反応抗原(NCA)、および(2)物理化学特性がCEAとほとんど同一である胎便抗原(MA)である。Primus et al., Cancer Research 43:686 (1983)は、一群のモノクローナル抗体(MAb)により、CEA分子上のNCAと交差反応性を有するエピトープ、MAと交差反応を有するエピトープ、およびCEAに特異的なエピトープの特徴を初めて明らかにした。特に3クラスの抗CEA抗体が同定された。すなわち、1)CEA、NCAおよびMAと反応するクラスI抗体、2)CEAとMAには反応するが、NCAとは反応しないクラスII抗体、および、3)CEAに特異的であって、NCAおよびMAとは結合しないクラスIII抗体がそれである。クラスIII抗CEA・MAbの作製方法は、Primus et al., Cancer Research 43:686 (1983)、およびPrimus et al. に付与された米国特許第4,818,709号に開示されている。さらに、第二世代クラスIII抗CEA・MAbの作製が、Hansen et al., Cancer 71:3478 (1993)で開示されている。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。

MAbは、よく確立されている各種の技術により、ハイブリドーマ培養物から単離精製することができる。このような単離技術としては、プロテインA・セファロースを用いるアフィニティー・クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグ

ラフィー、およびイオン交換クロマトグラフィーがある。例えば、Coliganの2.7.1-2.7.12頁、および2.9.1-2.9.3頁を参照されたい。またさらに、Bairst et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," in METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, VOL. 10, 79-104頁(The Humana Press, Inc. 1992)を参照されたい。

他の実施例において、本発明の抗体は類人霊長類の抗体である。ヒトを用いて治療に有用な抗体をつくる一般的な技術が、例えば、Goldenberg e

t a l. に付与された国際特許公告第WO 91/11465 (1991) 号、および Losman et al., Int. J. Cancer 46:310 (1990) で開示されている。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。

さらに他の実施例において、本発明の抗体は「ヒト化」モノクローナル抗体である。すなわち、マウス相補性決定領域をマウス免疫グロブリンのHおよびL可変鎖からヒト可変ドメインに転移した後、マウス可変鎖のフレームワーク領域をヒト残基に置換する。本発明によるヒト化モノクローナル抗体は治療法に用いるのに好適である。マウス免疫グロブリンの可変ドメインをクローニングする一般的技術は、例えば Orlandi et al. の Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 86:3833 (1989) での発表において説明されている。この文献は引用することにより本明細書の一部とする。ヒト化MAbの作製方法は、例えば Jones et al., Nature 321:522 (1986)、Riechmann et al., Nature 332:323 (1988)、Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)、Carter et al., Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 89:4285 (1992)、Sandhu, Crit. Rev. Biot

ech. 12:437 (1992)、および Singer et al., J. Immun. 150:2844 (1993) で説明されている。これらの文献各々は引用することにより本明細書の一部とする。

さらに他の実施例において、本発明の抗体はヒト・モノクローナル抗体である。この抗体は、抗原攻撃に応答して特定のヒト抗体を産生するよう「操作」したトランスジェニックマウスから得ることができる。この技術では、ヒトのH鎖及びL鎖遺伝子座の部分を、内因性のH鎖及びL鎖遺伝子座が破壊されている胚性幹細胞系に由来するマウスの細胞株に導入する。このトランスジェニックマウスは、ヒト抗原に特異的なヒト抗体を合成することができ、このマウスを使ってヒト抗体を分泌するハイブリドーマを産生することができる。トランスジェニック

マウスからヒト抗体を得る方法はGreen et al., Nature Genet. 7:13 (1994)、Lonberg et al., Nature 368:856 (1994)、およびTaylor et al., Int. Immun. 6:579 (1994)で説明されている。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。

3. 抗体フラグメントの作製

本発明は、Ab1のフラグメントまたはAb2のフラグメントを使用することを意図している。抗体を加水分解によりタンパク質分解したり、フラグメントをコードするDNAを大腸菌中で発現させることにより抗体フラグメントを作製することができる。

従来法では、ペプシンやパパインで全抗体を消化して抗体フラグメントを得ることができる。この抗体の製法では、例えば、先ずペプシンで抗体を酵素切断してF(ab')₂という5Sフラグメントを得る。次に、チオール還元剤を用い、ジスルフィド結合が切断されたために生じたスルフヒドリル基を適宜保護しつつ、このフラグメントをさらに切断すると一価の3.5S Fab'フラグメントを生

じる。これに代わり、ペプシンを用いる酵素切断によってそれぞれ一価のFabフラグメントとFcフラグメントの二つを一度に作製することもできる。これらの方法は、例えばGoldenbergに付与された米国特許第4,036,945号および第4,331,647号、ならびにこれらの特許の引用文献で説明されている。引用することによりこれらの特許全文を本明細書の一部に組み込むものとする。さらにまた、Nisonoff et al., Arch Biochem. Biophys. 89:230 (1960)、Porter, Biochem. J. 73:119 (1959)、Edelman et al., in METHODS IN ENZYMOLOGY VOL. 1, 422頁 (Academic Press 1967)、およびColigan 2.8.1-2.8.10頁および2.10.-2.10.4頁を参照されたい。

この他にも、全抗体が認識できる抗原に結合するフラグメントを得ようとする

限りでは、H鎖を単離して一価のL・H鎖フラグメントを得る方法、フラグメントをさらに切断する方法、あるいはこの他の酵素技術、化学技術または遺伝子技術などの抗体切断方法を使用することができる。

例えば、F_vフラグメントは、V_HおよびV_L鎖の会合からなっている。これを Inbar et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 69:2659 (1972) が説明する方法により非共有結合することができる。その他、可変鎖を分子間ジスルフィド結合で結合したり、グルタルアルデヒドなどの化学物質で架橋することもできる。例えば、前掲の Sandhu を参照されたい。

F_vフラグメントは、ペプチド・リンカーで結ばれているV_HおよびV_L鎖からなっていることが好ましい。このような抗原結合性一本鎖タンパク質 (sF_v) は、オリゴヌクレオチドによって結合されているV_HおよびV_LドメインをコードするDNA配列を含む構造遺伝子を構成して作製する。構造遺伝子を発現ベクタ

ー中に挿入した後、この発現ベクターを大腸菌などの宿主細胞に組み入れる。このようにした組換え宿主細胞は、二つのVドメインを架橋するペプチド・リンカーを持つ一本鎖ポリペプチドを合成する。sF_vの作製方法は、例えば Whittlow et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2:97 (1991) で説明されている。さらにまた、Bird et al., Science 242:423-426 (1988)、Lander et al. に付与された米国特許第4,946,778号、Pack et al., Bio/Technology 11:1271-1277 (1993)、および前掲の Sandhu を参照されたい。

抗体フラグメントのもう一つの形態として、1つの相補性決定領域 (CDR) をコードするペプチドがある。CDRペプチド (「最少認識単位」) は、興味ある抗体のCDRをコードする遺伝子を構成して得ることができる。この遺伝子は、ポリメラーゼ連鎖反応を利用して、抗体産生細胞のRNAから可変部を合成することにより作製する。例えば、Larrick et al., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2

: 106 (1991) を参照されたい。

4. 抗イディオタイプ抗体 (Ab 2) の作製

ポリクローナルAb 2は、標準技術によりAb 1やフラグメントを動物に免疫して作製することができる。例えば、Green et al., "Production of Polyclonal Antisera," in METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY: IMMUNOCHEMICAL PROTOCOLS, Manson (ed.), 1-12頁 (Humana Press 1992) を参照されたい。また、Coliganの2. 4. 1-2. 4. 7頁も参照されたい。

この他、免疫原としてAb 1またはフラグメントを用い、上記の技術によりモノクローナルAb 2を作製することもできる。例3ではラット・モノクローナルAb 2の作製を例示している。

この他さらに、上記の技術によりヒト化Ab 2や類人霊長類Ab 2を作製することもできる。

5. 二重特異性抗体の作製

二重特異性抗体を用いてT細胞を拾い上げ、このT細胞に腫瘍細胞を標的に向けさせることができる。二重特異性抗体は、同一ではないLおよびH鎖を対として組み合わせてなる、異なる二つの抗体特異性を持つハイブリッド分子である。例えばこれまでも、T細胞でCD3シグナル伝達タンパク質を認識する第一の結合部位と、腫瘍関連抗原に対する第二の結合部位を持つ二重特異性抗体が作製されていた。例えば、Canevari et al., Int. J. Cancer 42:18 (1988)、Lanzavecchia et al., Eur. J. Immunol. 17:105 (1987)、Van Dijk et al., Int. J. Cancer 43:344 (1989)、およびRenner et al., Science 264:833 (1994) を参照されたい。

各種の従来法により二重特異性抗体を作製することができる。これら従来法の例としては、ジスルフィド切断法、ならびに全抗体、好ましくはF(ab')₂フラグメントの混合物の再形成法、一以上のハイブリドーマを融合して一以上の

特性を持つ抗体を産生するポリオーマを形成する方法、および遺伝子操作が挙げられる。従来は、異なる抗体を還元切断して得たF a b' フラグメントを酸化切断して、二重特異性抗体を作製していた。例えば、Winter et al., Nature 349:293 (1991)を参照されたい。この方法は有利な方法である。先ず、二つの異なる抗体をペプシンで消化して作製した二つの異なるF (a b')₂フラグメントを混合する。これを還元切断して、F a b' フラグメントからなる混合物を形成する。続いて、ジスルフィド結合を酸化により再形成

して、元のエピトープ各々に特異的なF a b' 部分を含有する二重特異性抗体を含むF (a b')₂フラグメントの混合物を形成するのである。この抗体複合体を作製する一般技術は、例えばNisonhoff et al., Arch Biochem. Biophys. 93:470 (1961)、Hammerling et al., J. Exp. Med. 128:1461 (1968)、および米国特許第4, 331, 647号で説明されている。

マレイミド-ヒドロキシスクシンイミドエステルなどの異種二官能リンカーを使えば、より選択的に結合することができる。このエステルを抗体またはフラグメントと反応させると、抗体またはフラグメントにアミン基が誘導される。この誘導体を、例えば遊離スルフヒドリル基を持つF a b抗体フラグメント（または、トラウト試薬等でスルフヒドリル基を付加したより大きなフラグメントまたは全抗体）と反応させる。このようにして得たリンカーは、同一抗体内の基を互いに架橋する可能性が少ないので、結合の選択性が向上する。

抗体やフラグメントは、抗原結合部位から離れている部位で結合するのが有利である。この結合は、例えば、上記のように鎖間スルフヒドリル基を切断して、これに結合すればよい。もう一つの方法は、炭水化物部分を酸化した抗体を、少なくとも一個の遊離アミン官能基を持つ他の抗体と反応させる方法である。こうすると、始めにシッフ塩基（イミン）結合ができる。この結合は、第二アミンに還元すること、例えば水素化ホウ素により還元することにより安定化して、最終複合体を形成するので好ましい。このような部位特異性の結合は、小さい分子の

ものが米国特許第4, 671, 958号、大きな付加物のものが米国特許第4, 699, 784号に開示されている。

本明細書においては、二重特異性抗体はT細胞と結合する部分と、腫瘍細胞関連抗原または感染性生物に関連する抗原を結合する部分とを含む。例えば、CEA結合部分はクラスIII・Ma bから得ることができ、またT細胞結合部分は抗C

D3・Ma bから得ることができる。抗CD3抗体の作製方法は当業者によく知られている。例えば、前掲のCanevari et al.、前掲のVan Dijk et al.、Hansen et al., "Human T Lymphocyte Cell Surface Molecules Defined by the Workshop Monoclonal Antibodies (T Cell Protocol)," in LEUKOCYTE TYPING: HUMAN LEUKOCYTE MARKERS DETECTED BY MONOCLONAL ANTIBODIES, Bernard et al., (eds.) 195-212頁 (Springer-Verlag 1984)、および米国特許第4, 361, 549号を参照されたい。上記以外では、抗CD3抗体はBoehringer Mannheim Corp. (Indianapolis, IN, Cat. No. 1273 485) およびAmerican Type Culture Collection (Rockville, MD; ATCC CRL 8001 [OKT-3]) から市販されており、これらから入手することもできる。

二重特異性抗体の作製は、例えば上記と同様にして先ず抗CEAクラスIII・Ma bからF-(a b')₂フラグメントを形成する。L-H鎖結合ができないように注意しながら、抗CEAクラスIII・F-(a b')₂フラグメントの鎖間ジスルフィド架橋をシステインで穏やかに還元して、F a b' -SHフラグメントを形成する。SH基を過剰のビスマレイミド・リンカー(1, 1'-(メチレンジ-4, 1-フェニレン)ビスマレイミド)で活性化する。抗CD3・Ma bをF a b' -SHに転換した後、活性化した抗CEAクラスIII・F a b' -SHフ

ラグメントと反応させて、二重特異性抗体を得る。

この代わりに、抗CD3・Mabと抗CEAクラスIII・Mabを産生する二つのハイブリドーマ細胞系を融合して、二重特異性抗体を産生させることもできる。

テトラドーマをつくる技術は、例えばMilstein et al., Nature 305:537 (1983) およびPohl et al., Int. J. Cancer 54:418 (1993) で説明されている。

最後に、二重特異性抗体は遺伝子操作によっても作製することができる。例えば、抗CEAクラスIII・Mabの可変ドメインをコードするDNAを含有しているプラスミドを、抗CD3抗体を分泌するハイブリドーマに導入する。このようにして得た「トランスフェクトーマ」は、CEAとCD3に結合する二重特異性抗体を作製する。また、抗CD3結合ドメインと抗CEA結合ドメインの両方をコードするように、キメラ遺伝子を設計してもよい。遺伝子操作により二重特異性抗体をつくる一般技術は、例えばSongsivilai et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 164:271 (1989)、Trauneker et al., EMBO J. 10:3655 (1991)、およびWeiner et al., J. Immunol. 147:4035 (1991) で説明されている。

6. 腫瘍細胞および感染性生物に対する体液性免疫応答および細胞性免疫応答を増幅することを目的とする抗体とサイトカインの使用

本発明はAb1、Ab1に対して作られるAb2、およびAb1またはAb2いずれかのフラグメントを治療に使用することを意図している。これらの抗体やフラグメントをワクチンとして用いて、投与された哺乳動物の体液性および細胞性免疫の両方を誘導することができる。さらに、Ab1および／または二重特異性抗体の投与を利用して、一体化された免疫反応を増幅することもできる。

本発明の一方法によれば、哺乳動物にAb1またはそのフラグメントを含むワクチンで免疫して、Ab2とT細胞（T2細胞）の産生を誘導する。哺乳動物がT2細胞を産生し始めるようになったら、Ab1またはそのフラグメントを静脈

内投与してT2細胞集団を大きく育てるようにする。この第二回投与には上記の

他に、抗体やフラグメントが腫瘍細胞または感染性生物上の同系の抗原に結合するので、T2細胞の標的としての役割を果たすことができる利点がある。特定の抗体と反応するT細胞の産生を検出する方法は、当業者によく知られている。例えば、Fagerberg et al., Cancer Immunol. Immunother. 37:264 (1993)を参照されたい。この文献は引用することにより本明細書の一部とする。

好適な方法によれば、さらにその後哺乳動物にAb2またはそのフラグメントを含むワクチンを接種して、Ab3の形成と、Ab2を認識するT細胞(T3細胞)の形成を誘導する。このAb2の追加接種には、腫瘍関連抗原や感染性生物抗原を発現する細胞が、その抗原に対するT3細胞および抗原が結びついているAb3に対するT2細胞によって破壊されるという利点がある。例4ではAb1ワクチン、Ab1(または、フラグメント)、およびAb2ワクチンの投与を含む治療方法を例示している。

さらに、Ab2ワクチン接種後、Ab1抗体またはフラグメントを静脈内に投与することによりT2応答をさらに増幅させることができる。

静脈内投与されて循環しているAb1抗体の存在のために、Ab2ワクチンの効果が低下する可能性がある。したがって、Ab2ワクチンの投与前に循環しているAb1を取り除いておくことが好都合である。Ab1の除去方法の一つは、ビオチンと複合しているAb1抗体を利用して、Ab1を除去する方法である。この方法では、循環しているビオチン化Ab1は、Ab2接種前にアビジンを静脈内に投与して取り除くことができる。Ab1(または、そのフラグメント)の投与一日あるいは二日後アビジンによる除去を行うことが好ましい。この抗体の除去技術はGoldenbergの国際特許出願公告第WO94/04702(1994)号で説明されている。

上記に代わる免疫療法としては、哺乳動物をAb1ワクチンで免疫し、Ab1

(またはフラグメント)で治療して大部分の腫瘍抗原部位または感染性生物抗原

部位を飽和させる。その後、Ab1ワクチンで高度免疫を行い、Ab1（または、そのフラグメント）でおおわれた細胞に対する多数の細胞障害性リンパ球を発生させる方法がある。

免疫療法の好適方法によれば、サイトカインの投与により免疫応答がさらに増幅される。サイトカインの例としては、インターフェロン（INF）、インターロイキン（IL）および腫瘍壊死因子が挙げられる。INF- γ はマクロファージ、ならびにリンパ球および単球上の細胞表面クラスII組織適合性抗原を誘導する。例えば、Klegerman et al., "Lymphokines and Monokines," in BIOTECHNOLOGY AND PHARMACY, Pezzuto et al. (eds.), 53-70頁(Chapman & Hall 1993)、およびRoitt et al., IMMUNOLOGY, 第3版、7.8-7.14頁(Mosby 1993)を参照されたい。IL-2はT細胞成長因子であり、天然に存在するキラー細胞の刺激因子であり、しかも腫瘍反応性T細胞の刺激因子でもある。前掲に同じ。したがって、INF- γ とIL-2とは免疫応答を増強するのに好ましいサイトカインなのである。

本発明の抗体とフラグメントとは、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合させてワクチンとして使用することができる。好適な担体タンパク質には、カギアナカサガイヘモシアニン（KLH）を含むが、これは好ましい担体タンパク質でもある。抗体とフラグメントは標準法により担体タンパク質と複合させることができる。例えば、Hancock et al., "Synthesis of Peptides for Use as Immunogens," in METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY: IMMUNOCHEMICAL PROTOCOLS, Manson (ed.), 23-32頁(Human and

Press 1992)を参照されたい。

好ましい接種用組成物は、抗体複合体またはフラグメント複合体と、アジュバントを含む。好適なアジュバントの例としては、水酸化アルミニウムと脂質が挙

げられる。ワクチン組成物の製剤方法は当業者によく知られている。例えば、R o l a , " I m m u n i z i n g A g e n t s a n d D i a g n o s t i c S k i n A n t i g e n s , " i n R E M I N G T O N ' S P H A R M A C E U T I C A L S C I E N C E S , 第18版、G e n n a r o (e d .) , 1 3 8 9 - 1 4 0 4 頁 (M a c k P u b l i s h i n g C o m p a n y 1 9 9 0) を参照されたい。

加工ステップ数を増加することにより、治療用途でワクチン作用の持続時間を制御できる製剤を製造することができる。抗体やフラグメントの複合体を作るポリマー、あるいは抗体やフラグメントを吸収するポリマーを用いて、徐放製剤を作製することができる。生体適合性ポリマーとしては、例えばポリ(エチレンビニルアセテート)のマトリックス、およびステアリン酸二量体とセバンシン酸のポリアンヒドリド・コポリマー (p o l y a n h y d r i d e c o p o l y m e r) のマトリックスがある。S h e r w o o d e t a l . , B i o / T e c h n o l o g y 1 0 : 1 4 4 6 (1 9 9 2) を参照されたい。抗体や抗体フラグメントがマトリックスから放出される速度は、抗体やフラグメントの分子量、マトリックス内の抗体またはフラグメントの量、ならびに分散粒子の大きさに依存している。S a l t z m a n e t a l . , B i o p h y s . J . 5 5 : 1 6 3 (1 9 8 9) 、前掲のS h e r w o o d e t a l . を参照されたい。この他、固体剤形もA n s e l e t a l . , P H A R M A C E U T I A L D O S A G E F O R M S A N D D R U G D E L I V E R Y S Y S T E M S , 第5版 (L e a & F e b i g e r 1 9 9 0) 、および、G e n n a r o (e d .) , R E M I N G T O N ' S P H A R M A C E U T I C A L S C I E N C E S , 第18版

(M a c k P u b l i s h i n g C o m p a n y 1 9 9 0) で説明されている。

本発明の抗体製剤は、公知の製薬的に有用な組成物の製法により製剤することができる。すなわち、抗体または抗体フラグメントを製薬的に許容できる担体と混合して混合物を作るのである。投与された哺乳動物にとって寛容な組成物は、

「製薬的に許容できる担体である」ということができる。無菌リン酸緩衝塩水は、製薬的に許容できる担体の一例である。他の好適な担体も当業者によく知られている。例えば、Ansel et al., PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS AND DRUG DELIVERY SYSTEMS, 第5版 (Lea & Febiger 1990)、および、Gennaro (ed.), REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 第18版 (Mack Publishing Company 1990) を参照されたい。

抗体やフラグメントは哺乳動物の静脈内または皮下に投与する。さらに、連続注入による投与あるいは一回または複数回の大量投与を行うことができる。好ましくは、抗体ワクチンは皮下投与し、ワクチンではない抗体製剤は静脈内に投与する。一般に、ヒトに対する抗体やフラグメントの投与量は、患者の年齢、体重、身長、性別、病状一般、および病歴などの要因によって変わってくる。典型的には、(薬剤の用量/患者の体重の比で) 約 $1 \text{ pg/kg} \sim 10 \text{ mg/kg}$ の用量範囲の抗体またはフラグメントを患者に与えることが望ましい。この場合、必要に応じて投与量を増減することができる。

治療の目的のためには、治療有効量の抗体またはフラグメントを哺乳動物に投与する。「治療有効量」の抗体製剤を投与するとは、生理的に有意な用量を投与することである。薬剤が存在することにより投与された哺乳動物の生理に変化が検出されることを生理的に有意であるという。特に、本発明の抗体製剤の場合は、投与された哺乳動物にこの抗体製剤が存在することにより、体液性免疫応答および

び/または細胞性免疫応答が刺激されることが生理的に有意であるという。

A b 1 ワクチンや A b 2 ワクチンの投与前および投与中に、 $\text{INF-}\gamma$ や IL-2 などのサイトカインを投与する。上記に代わり、抗体ワクチンの投与前と投与中に、 $\text{INF-}\gamma$ と IL-2 を同時に投与してもよい。サイトカインは哺乳動物の静脈内、筋肉内、または皮下に投与する。例えば、組換え IL-2 は、静脈内に $6 \times 10^5 \text{ IU/kg}$ の大量投与ができるし、あるいは $1.8 \times 10^6 \text{ IU/m}$

$2/d$ を連続注入することができる。Weiss et al., J. Clin. Oncol. 10:275 (1992)を参照されたい。上記に代わり、 12×10^6 IUの組換えIL-2を皮下投与することもできる。Vogelzang et al., J. Clin. Oncol. 11:1809 (1993)を参照されたい。さらに、INF- γ は 1.5×10^6 Uを皮下投与することができる。Lienard et al., J. Clin. Oncol. 10:52 (1992)を参照されたい。好適なIL-2製剤としてはPROLEUKIN (Chiron Corp. / Cetus Oncology Corp; Emeryville, CA) およびTECELEUKIN (Hoffman-La Roche, Inc. ; Nutley, NJ)を挙げることができ、他方ACTIMMUNE (Genentech Inc. ; South San Francisco, CA) が好適なINF- γ 製剤である。

さらに、Ab1による初回治療後、二重特異性抗体を投与してもよい。二重特異性抗体の機能は、リンパ球とCEAを有する腫瘍細胞とを架橋し、リンパ球を介して細胞溶解を引き起こすことにある。二重特異性抗体は上記の一般指針にしたがって投与する。しかしながら、二重特異性抗体は抗体ワクチンとは異なり、免疫原と結合しない。

当業者は、上記した各種方法が感染性生物の予防にも使用できることを理解するであろう。したがって、本発明は本明細書で説明する各種方法を、哺乳動物が

感染性生物にであう前の予防を目的として使用することを意図している。

7. キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質を発現するT細胞の作製ならびに治療を目的とするその使用

T細胞は相互排他的な二つの集団に分類される。 α および β T細胞レセプター(TCR)ポリペプチドを発現するT細胞と、 γ および δ TCRポリペプチドを発現するT細胞がそれである。一般的に、Roitt et al., IMMUNOLOGY, 第3版(Mosby 1993)、およびBolhuis et al., Cancer Immunol. Immunother. 34:1 (1991)を参照されたい。 $\alpha\beta$ ポリペプチドの組は、95%以上の末梢T細胞と極

めて大多数のTCR-発現胸腺細胞によって発現される。対照的に、 $\gamma\delta$ ポリペプチドの組は胸腺と二次リンパ器官のT細胞によって発現されるが、その割合は低い。その反面 $\gamma\delta$ T細胞は各種上皮に豊富に存在している。

TCRヘテロ二量体のポリペプチド鎖各々は、どちらも免疫グロブリン様の外側可変ドメインと定常ドメインの二つを含み、トランスメンブラン・ペプチドと短い細胞質尾部によって形質膜中に固定されている。TCRポリペプチドのN末端ドメインには、免疫グロブリンの可変ドメインと相同である可変部が含まれている。さらに、これらのTCR可変ドメインを分析した結果、免疫グロブリンの超可変部(CDR)に対応する比較的に大きな変異性を有する領域が存在することが分かった。 $\alpha\beta$ および $\gamma\delta$ ポリペプチドの可変ドメインは、免疫グロブリン分子の V_H/V_L ドメインの会合に似た形で互いに会合していて、6個のTCR超可変部と一緒に抗原結合部位を形成していると考えられている。

TCR $\alpha\beta$ および $\gamma\delta$ ポリペプチドは両方とも、まとめてCD3と命名されている一連のポリペプチド(γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ 、および η)と非共有結合的に会合して、完全なTCR複合体を形成している。TCRポリペプチドとは対照的に、CD3成分のアミノ酸配列は、T細胞が異なっても変異性を示さないので、C

CD3成分はTCRポリペプチドに関する多様性を創り出すことはできない。その代わり、TCR複合体では、TCRと抗原の相互作用によって発生するシグナル伝達にCD3成分を必要としている。

一般に、抗原提示細胞の表面上で、T細胞は主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)分子と共同して細胞結合抗原を認識する。しかしながら、特定の腫瘍を標的とするが、MHCによって制限されないT細胞を作製する方法がある。上記した二重特異性抗体がT細胞を標的に向わせる一つの方法である。もう一つの方法はT細胞を遺伝子操作によってキメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターを持たせることである。効果を上げるためには、キメラ免疫グロブリン/TCRがT細胞によって安定的に発現され、キメラ免疫グロブリン/TCRとCD3シグナル伝達ポリペプチドとの間に機能的な共同関係が形成されなければならない。

これまでにTCR α 鎖および β 鎖の可変遺伝子セグメントを免疫グロブリンの

HおよびL鎖の可変遺伝子セグメントで置換した、機能的なキメラ免疫グロブリン/TCRsが作製されてきた。例えば、Becker et al., Cell 58:911 (1989)、Eshhar et al., Br. J. Cancer 62 (Suppl. 10):27 (1990)、Goverman et al., Cell 60:929 (1990)、Gross et al., Transplant Proc. 21:127 (1989a)、およびGross et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10024 (1989b)を参照されたい。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。本発明は、TCR α 鎖および β 鎖がAb1またはAb2のいずれかのH鎖およびL鎖の可変遺伝子セグメントによって置換されている、キメラ免疫グロブリン/TCRを構成することを意図している。

さらにまた、これまでに免疫グロブリン可変セグメントをコードするDNAフラグメントが γ 、 δ または η CD3ポリペプチドをコードするDNAフラグメン

トと融合している機能的なキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質が作製されてきた。例えば、Seed et al., 国際特許出願公告第WO92/15322 (1992)号、およびEshhar et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:720 (1993)を参照されたい。これらの文献は引用することにより本明細書の一部とする。したがって、本発明は、Ab1またはAb2のいずれかのH鎖およびL鎖の可変遺伝子セグメントを含むキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質を構成することを意図している。

キメラ免疫グロブリン/TCRおよびキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質は、標準的な技術を使って構成することができる。典型的な技術として、次の方法を例示するが、この方法は抗CEA (または、Ab2)/TCRの構成に使用することができる。

抗CEA・Ma bまたは抗イディオタイプ・Ma bの可変部をコードするDNA分子は、これらの抗体を産生するハイブリドーマのRNAのポリメラーゼ連鎖反応によって合成することができる。マウス可変部と好適なプライマーの一般的な合成技術は、例えば前掲のOrlandi et al., Larrick e

tal., Methods: A Companion to Methods in Enzymology 2:106 (1991)、およびKang et al., (前掲111頁と同じ)で説明されている。

ヒトT細胞レセプターのポリペプチドをコードするDNA分子の作製方法は、当業者によく知られている。例えば、Bougueleret et al., Immunogenetics 26:304 (1987)、およびLuria et al., EMBO J. 6:3307 (1987)を参照されたい。さらに、キメラ免疫グロブリン/TCRの構成技術およびキメラ遺伝子を発現ベクターに挿入する技術は、例えば前掲のBecker et al.、前掲のEshhar et al.、前掲のGoverman et al.、前掲のGross et

al. (1989a)、および前掲のGross et al. (1989b)で説明されている。さらに、免疫グロブリン融合タンパク質を構成する標準プロトコルは、Coliganの10.19.1-10.19.11頁で説明されている。発現ベクターは、安定なトランスフェクトされた細胞をつくるために優先選択マーカーを含有していることが好ましい。

キメラ免疫グロブリン/TCR遺伝子を含む発現ベクターをヒトT細胞に導入する。ヒト末梢血液細胞は、簡単に静脈を穿刺し、フィコール・ハイパック (Ficoll-Hypaque) 勾配単離法により分画して、単核細胞の画分を得ることができる。例えば、Coliganの7.1.1-7.1.2頁を参照されたい。その上で、ロゼット法によりT細胞を他の単核細胞から単離する。前掲7.2.1-7.2.4頁を参照されたい。発現ベクターをヒトT細胞画分に導入する方法としては、電気穿孔法その他よく知られている方法がある。例えば、Co et al., J. Immunol. 148:1149 (1992)、およびColiganの10.13.2-10.17.7頁を参照されたい。

代わりに、レトロウイルスを介する遺伝子の転移によって、キメラ免疫グロブリン/TCRをT細胞に導入することもできる。この方法には、プロウイルスのコピーがすべて安定してT細胞の染色体に組み込まれるため、キメラ免疫グロブリン/TCRsが確実に構成的に発現されるという利点がある。レトロウイルス

を介する遺伝子転移によりヒトT細胞をトランスフェクトする方法は、Kasid et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 87:473 (1990)、Rosenberg et al., N. Engl. J. Med. 323:570 (1990)、およびMorecki et al., Cancer Immunol. Immunother. 32:342 (1991)で説明されている。

発現ベクターを担持するトランスフェクトされたT細胞は、優先選択マーカーを使って選択する。例えば、G418を使って、アミノグリコシド・ホスホトランスフェラーゼ遺伝子を持つ発現ベクターを担持するトランスフェクトT細胞を選択することができる。Southern et al., J. Mol. Appl. Gen. 1:327 (1982)を参照されたい。トランスフェクトされたヒトT細胞をG418によって選択する方法は、前掲のMorecki et al.で説明されている。この代わりに、ハイグロマイシンBを使って、ハイグロマイシンB-ホスホトランスフェラーゼ遺伝子を持つ発現ベクターを担持するトランスフェクトされた細胞を選択することもできる。Palmer et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 84:1055 (1987)を参照されたい。さらに、アミノプテリンやミコフェノール酸を使って、キサンチン-グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子を持つ発現ベクターを担持するトランスフェクトされた細胞を選択することもできる。Mulligan et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 78:2072 (1981)を参照されたい。。

安定にトランスフェクトされたT細胞は、患者に投与する前に、培養し細胞数を増やす。T細胞を適当な抗原と共にインキュベートして、細胞増殖を誘導する。例えば、CEAを精製した製剤を使って、キメラ抗CEA/TCRポリペプチドを発現するT細胞の増殖を誘導することができる。一方、抗CEA抗体（または、そのフラグメント）を精製した製剤を使って、キメラ抗イディオタイプ/TCRポリペプチドを発現するT細胞を刺激することができる。抗原で誘導されるT細胞増殖の標準技術は、Colliganの7.10.4頁で説明されている。

これと関連して、抗原で誘導されるT細胞の増殖の重要な機能は、機能的な免疫グロブリン／TCR、または機能的な免疫グロブリン／CD3タンパク質の存在を確認できるということである。

培養増殖が終わったら、静脈内注入または腹腔内投与によってT細胞を患者に

戻してやる。例えば、Rosenberg et al., Science 233:1318 (1986)、Rosenberg et al., N. Engl. J. Med. 319:1676 (1988)、Hercend et al., J. Biol. Response Modif. 9:546 (1990)、Rosenberg et al., N. Engl. J. Med. 323:570 (1990)、およびBartholeyns et al., Anticancer Res. 11:1202 (1991)を参照されたい。

要するに、遺伝子操作により、キメラ免疫グロブリン／TCRやキメラ免疫グロブリン／CD3タンパク質を発現することができる形質転換されたヒトT細胞を作製することがきる。Ab1／TCRやAb1／CD3タンパク質を発現するT細胞はT3に対応し、抗イディオタイプ(Ab2)／TCRやAb2／CD3タンパク質を発現するT細胞はT2細胞に対応する。

養子免疫療法の場合、効能を増進するいくつかの方法がある。Ab1／TCRやAb1／CD3タンパク質を発現するT細胞を投与した後、Ab2ワクチンを投与して、注入されたT細胞をin vivoで増加させる。同様にして、Ab2／TCRやAb2／CD3タンパク質を発現するT細胞を投与した後、Ab1を接種する。どちらの場合でも、形質転換したT細胞の投与後、INF- γ とIL-2各々の単独投与、あるいはINF- γ とIL-2の同時投与をすると、免疫反応はさらに増幅する。したがって、形質転換したT細胞を用いる養子免疫療法は、抗体の接種とサイトカインによる処置によってその効果を補い、かつ、増進することができる。

上記において本発明を一般的に説明したが、理解を容易にするため下記では実施例により説明する。これらの実施例は説明を目的としてなされるものであって、本発明を制限することを意図していない。

例 1

マウス抗CEA・Mab (MN-14) の作製

クラスIII抗CEA・MabであるMN-14の作製は、Hansen et al., Cancer 71:3478 (1993)で説明されている。この文献は引用することにより本明細書の一部とする。簡単に説明すると、体重20グラムのBALB/c雌マウスに、部分精製したCEA7.5 μ gを完全フロイントアジュバント中に懸濁した懸濁液を皮下接種した。第3日CEA7.5 μ gとフロイントアジュバントとの懸濁液を皮下に追加接種した。第6日と第9日にはそれぞれ、CEA7.5 μ gを食塩水に溶解した溶液を静脈内に追加接種した。第278日にはCEA65 μ gを、また第404日にはCEA90 μ gをそれぞれ食塩水に溶解した溶液を静脈内投与した。第407日マウスを殺して、脾臓細胞の懸濁液を作製し、ポリエチレングリコールを用いて脾臓細胞とマウスミエローマ細胞SP2/0-Ag14(ATCC CRL 1581)とを融合し、8-アザグアニンを含む培地で細胞を培養した。ハイブリドーマ培養上清は、 125 I-CEAラジオイムノアッセイ(Roche; Nutley, NJ)を用いて、CEA-反応性抗体についてスクリーニングされた。陽性のクローンは、再度クローニングされた。

MN-14と命名した一つのクローンは、クラスIII抗CEA特異的MAbであるNP-4と特性が類似していて、正常交差反応性抗原および胎便抗原とは反応しなかった。しかしながら、NP-4と比較すると、MN-14は、ヒト結腸腫異種移植片モデルにおいて腫瘍を標的とする作用が有意に優れており、また常に結腸癌の凍結切片を強く染色した。

例 2

CDR-移植MN-14 (hMN-14) とhAb1ワクチン

(hMN-14ワクチン) の作製

MN-14の相補性決定領域(CDR)をヒトIgG1抗体のフレームワーク
領

域に移植した修飾抗体を作製した。このCDRを移植した（「ヒト化」）MN-14抗体を「hMN-14」と命名した。ヒト化抗体を作製する一般技術は、例えば Jones et al., Nature 321:522 (1986)、Reichmann et al., Nature 332:323 (1988)、Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)、Carter et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:4285 (1992)、Sandhu, Crit. Rev. Biotech. 12:437 (1992)、および Singer et al., J. Immun. 150:2844 (1993) で説明されている。

hMN-14 ワクチンは、hMN-14 をカギアナカサガイヘモシアニン (KLH) と複合させて作製する。複合体 (2mg/注射) に Tice Bacillus Calmette-Guérin (Organon: West Orange, NJ) 100 μ l (菌数 10^7 個) を混合して皮下注射したところ、患者は典型的に免疫された。

例3

MN-14 に対するラット・モノクローナル Ab 2 (WI 2)

および Ab 2 ワクチン (WI 2 ワクチン) の作製

Losman et al., Int. J. Cancer 56:580 (1994) が説明している方法により、MN-14 に対するラット Ab 2 を作製した。この文献を引用することにより本明細書の一部とする。簡単に説明すると、3 週齢の雌のコペンハーゲン・ラットに、MN-14 の F (a b')₂ フラグメント 200 μ g を完全フロイントアジュバントで乳化した乳化剤を腹腔内注射した。ラットは第 200 日、第 230 日および第 235 日に、同量の抗原を不完全フロイントアジュバントで懸濁したもので追加接種した。最後の注射の 4 日後ラットを殺して、脾臓細胞の懸濁液を作製し、標準技術により細胞をマウス非分泌型形質

細胞腫 SP 2/0 と融合させた。ラット腹腔支持細胞の存在下 (10,000 細

胞/容量200 μ lの培養ウェル)でハイブリドーマ細胞を培養した。

ELISAにより培養上清に対し、MN-14とは反応性があること、および対照マウスMAbsとは反応性がないものをスクリーニングした。陽性のハイブリドーマはラット腹腔支持細胞の存在下で、限界希釈法により少なくとも2回クローニングを行った。

WI2はMN-14に特異的なIgG1 κ Ab2で、イソタイプが同一の他の抗CEA・MABとは反応しない。マウスまたはウサギをWI2で免疫することにより(対照ラットIgGは接種しなかった)、Ab1'抗CEA抗体の産生を誘導した。したがってWI2は、CEA産生腫瘍を持つ患者に、イディオタイプワクチンとして使用することができる。

WI2ワクチンは、hMN-14ワクチンと同様にしてWI2から作製する。

例4

hMN-14ワクチン(hAb1ワクチン)および

WI2ワクチン(Ab2ワクチン)による治療

一次腫瘍を切除したDukes C 結腸癌を持つ患者を、フロロウラシルとレバミゾールアジュバントにより治療した。手術前のCEA力価は15.5 ng/mlであった。一次腫瘍の切除手術の三ヶ月後のCEA力価は正常範囲、すなわち2.5 ng/ml以下であった。

2年後、この患者のCEA力価が25 ng/mlに上昇し、CATによるスキャンで肝臓左葉に5 cmの腫瘍、右葉に2 cmの腫瘍があるとの所見を得た。一ヶ月後、CEA力価が25 ng/mlであったので、hAb1ワクチン2 mgを皮下接種した(第0日)。第7日にも再接種を行った。

第30日ではAb1と反応するリンパ球が患者に認められた(T2細胞)。第40日では患者にhAb1を100 mg 静脈内投与した。二ヶ月後CEA力価は

5 ng/mlとなり、CATによるスキャンでは、左葉の腫瘍が2 cmまで小さくなっており、また右葉の腫瘍は完全に退縮していたことが認められた。

六ヶ月後、左葉の腫瘍が大きくなり、腹部に大きな腫瘍塊が認められ、ニードルバイオプシーで確認することができた。CEA力価は50 ng/mlに上昇し

ていた。患者には第0日および第30日にW I 2 A b 2ワクチン（2mg）を皮下投与したところ、第35日において注射部位に重篤な反応が発生したが、これは徐々に消散した。

三ヶ月後、CEA力価は 2.5 ng/ml 以下に低下し、左葉の腫瘍は完全に消失していることが認められた。腹部の塊は小さくなり、生検針では腫瘍の存在を見い出すことができず、リンパ球が侵入している繊維状の組織のみが認められるにすぎなかった。

二年後のCATスキャンでは腫瘍の再発を認めず、CEA力価は 2.5 ng/ml 以下であった。

上記の説明は特定の好適実施例について述べられているが、本発明はそれだけに限定されるものではない。当業者は、開示された実施例について各種の変更を加えることが可能であるが、このような変更は次の請求の範囲で定める本発明の範囲内に含めるものであることを理解するであろう。

本明細書で引用した全ての文献および特許出願は、本発明が関連する技術分野の技術水準を示すものである。あたかも各文献または特許出願が具体的にかつ個別的に名を挙げられ引用されて全文を組入れるごとく、これらすべての文献と特許出願を引用することにより本明細書の一部とする。

【手続補正書】特許法第184条の8

【提出日】1996年2月9日

【補正内容】

請求の範囲（補正）

1. (a) 腫瘍関連抗原(TAA)または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 該TAAまたは該感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第二のワクチンを該哺乳動物に投与するステップと

を含む腫瘍関連抗原(TAA)を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

2. 上記ステップ(a)の抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗体と、

(d) (a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる請求項1に記載の方法。

3. 該抗体フラグメントがF(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、sFv、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項2に記載の方法。

4. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

(a) ポリクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体と、

(c) (b)に由来するヒト化抗体と、

(d) ヒト・モノクローナル抗体と、

(e) 類人霊長類抗体と、

(f) (a)、(b)、(c)、(d)または(e)に由来する抗体フラグメント

ントと

からなる群から選ばれる請求項1に記載の方法。

5. 該抗体フラグメントが $F(a b')_2$ 、 $F(a b)_2$ 、 $F a b'$ 、 $F a b$ 、 $F v$ 、 $s F v$ 、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項4に記載の方法。

6. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターフェロン γ を投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

7. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターロイキン2を投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

8. 上記方法が、

(c) 該第二のワクチンの投与前および投与中にインターロイキン2およびインターフェロン γ を同時投与するステップ

をさらに含む請求項1に記載の方法。

9. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合しているワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質とは複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

10. 上記ステップ(b)の抗体または抗体フラグメントがビオチンと複合し、上記方法が、

(c) アビジンを投与して該ビオチン化抗体または該ビオチン化抗体フラグメ

ントの循環濃度を低下させるステップ

をさらに含む請求項9に記載の方法。

11. 上記方法が、

(d) 上記ステップ(a)のワクチンの第二回投与を行うステップ

をさらに含む請求項10に記載の方法。

12. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターフェロン γ を投与するステップ

をさらに含む請求項11に記載の方法。

13. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターロイキン2を投与するステップ

をさらに含む請求項11に記載の方法。

14. 上記方法が、

(e) 該第二回のワクチン投与前および投与中にインターロイキン2およびインターフェロン γ を同時投与するステップ

をさらに含む請求項11に記載の方法。

15. (a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、該DNA分子の該免疫グロブリンをコードしている部分がTAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体の可変部をコードしている発現ベクターをT細胞に導入し、トランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) 該トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加した該トランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻すステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者の

体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

16. 上記方法が、

(e) 該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、インターフェロン γ およびインターロイキン2からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なく

とも一種を投与するステップと、

(f) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップと

をさらに含む請求項15に記載の方法。

17. 上記方法が

(e) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップ

をさらに含む請求項15に記載の方法。

18. (a) 患者からT細胞を得るステップと、

(b) キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含み、該DNA分子の該免疫グロブリンをコードしている部分がTAAのエピープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗体の可変部をコードしている発現ベクターをT細胞に導入してトランスフェクトしたT細胞を得るステップと、

(c) 該トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激して、トランスフェクトしたT細胞数を増加させるステップと、

(d) 数の増加した該トランスフェクトしたT細胞集団を患者に戻すステップと

を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

19. 上記方法が、

(e) 該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、インターフェロングammaおよびインターロイキン2からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種を投与するステップと、

(f) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップとをさらに含む請求項18に記載の方法。

20. 上記方法が、

(e) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合し、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗体成分を含むワクチンを該患者に投与するステップをさらに含む請求項18に記載の方法。

21. 製薬的に許容できる担体、および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している治療有効量の抗癌胎児性抗原(CEA)抗体成分を含む、癌胎児性抗原(CEA)を発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチン。

22. 該抗CEA抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体と、

(b) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、

(d) (a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントとからなる群から選ばれる請求項21に記載のワクチン。

23. 該抗体フラグメントがF(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、sFv、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項22に記載のワクチン。

24. 製薬的に許容できる担体、および可溶の免疫原性担体タンパク質と複合していて、CEAのエピトープとよく似ている、治療有効量の抗イディオタイプ

抗体成分を含む、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療用ワクチン。

25. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

- (a) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するポリクローナル抗体と、
- (b) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するモノクローナル抗体と、
- (c) (b) に由来するヒト化抗体と、
- (d) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する類人霊長類抗体と、

(e) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、

(f) (a)、(b)、(c)、(d)または(e)に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる請求項24に記載のワクチン。

26. 該抗体フラグメントが $F(a-b')_2$ 、 $F(ab)_2$ 、 Fab' 、 Fab 、 Fv 、 sFv 、および最少認識単位からなる群から選ばれる請求項25に記載のワクチン。

27. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンを哺乳動物に投与するステップと、

(b) 可溶の免疫原性担体タンパク質と複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与するステップと、

(c) 該TAAまたは該感染性生物抗原のエピトープによく似ている、可溶の免疫原性担体タンパク質と複合している抗イディオタイプ抗体成分を含む第二のワクチンを該哺乳動物に投与するステップと
を含む、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法。

28. 該第一のワクチンがクラスIII抗CEA抗体を含み、ステップ(b)の該抗体がクラスIII抗CEA抗体であり、該第二のワクチンがクラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する抗体を含む請求項27に記載の方法。

29. CD3タンパク質と結合する部分と、CEAと結合する部分とを含み、該CEA結合部分はクラスIII抗CEA抗体に由来する二重特異性抗体を患者に投与するステップを含む、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal 1 Application No
PCT/US 95/08222

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K39/395 A61K35/14 A61K39/385		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VACCINE RESEARCH, vol. 2, no. 2, 1993 NEW YORK, pages 79-94, IRVINE K. ET AL 'Comparison of a CEA-recombinant vaccinia virus, purified CEA, and an anti-idiotypic antibody bearing the image of a CEA epitope in the treatment and prevention of CEA-expressing tumors' see page 79 see page 82	24-25
X	EP,A,0 438 803 (IMMUNOMEDICS INC.) 1991 see examples 1,4 see page 7, column 11, line 41 - line 53 --- -/--	24-25
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
16 October 1995		14. II 95
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 cpo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016		Authorized officer Fernandez y Branas, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 95/08222

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 90, 1993 WASHINGTON US, pages 720-724, ESHVAR, Z. ET AL 'Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors' see the whole document ---	15,18
X	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 86, 1989 WASHINGTON US, pages 10024-10028, GROSS, G. ET AL 'Expression of immunoglobulin T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity' see the whole document ---	15
X	WO,A,92 15322 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 1992 see the whole document ---	15
X	WO,A,93 11162 (PROTEIN DESIGN LABS, INC.) 1993 see page 17, line 1 - line 25 ---	29
A	WO,A,94 05329 (JENNER TECHNOLOGIES) 17 March 1994 see the whole document ---	1-29
A	EP,A,0 306 995 (ONCOGEN LIMITED PARTNERSHIP) 1989 see the whole document ---	1-29
A	CANCER, vol. 71, no. 11, 1993 PHILADELPHIA, pages 3478-3485, HANSEN H.J. ET AL 'Characterisation of second generation monoclonal antibodies against carcinoembryonic antigen' see the whole document ---	1-29
A	INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 56, no. 4, 15 February 1994 GENEVA, pages 580-584, LOSMAN M.J. ET AL 'mimicry of a carcinoembryonic antigen epitope by a rat monoclonal anti-idiotypic antibody' see the whole document ---	1-29

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 95/08222

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 44, 1989 GENEVA, pages 738-743, J.VAN DUK ET AL 'Bispecific antibodies reactive with the multidrug resistance related glycoprotein and CD3 induce lysis of multidrug resistance tumor cells' see the whole document -----	29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US95/08222

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-20, 27-29
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Remark: Although claims 1-20, 27-29 are directed to a method of treatment of the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the composition.
2. ☒ Claims Nos.: 29
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claim 29 is obscure. A part of the claim is missing.
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6A(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 95/08222

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-438803	31-07-91	AU-B- 641470	23-09-93
		AU-B- 7158191	21-08-91
		CA-A- 2033640	27-07-91
		IL-A- 96893	24-06-94
		WO-A- 9111465	08-08-91
WO-A-9215322	17-09-92	AU-B- 662136	24-08-95
		AU-A- 1555992	06-10-92
		BR-A- 9205736	27-09-94
		CA-A- 2104957	17-09-92
		CZ-A- 9301840	13-04-94
		EP-A- 0574512	22-12-93
		HU-A- 65631	28-07-94
		JP-T- 6509462	27-10-94
		NO-A- 933169	04-11-93
		NZ-A- 241855	27-04-94
		PT-A- 100207	31-05-94
WO-A-9311162	10-06-93	AU-A- 3147293	28-06-93
		CA-A- 2123894	10-06-93
		EP-A- 0618929	12-10-94
		JP-T- 7501698	23-02-95
WO-A-9405329	17-03-94	AU-B- 5097393	29-03-94
		EP-A- 0666761	16-08-95
EP-A-306995	15-03-89	US-A- 4918164	17-04-90
		AU-B- 630592	05-11-92
		AU-B- 2207788	16-03-89
		IL-A- 87692	12-04-94
		JP-A- 2000494	05-01-90
		QA-A- 8952	30-11-90

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 39/395

C 1 2 P 21/08

39/44

A 6 1 K 37/66

Z

C 1 2 N 5/10

37/02

15/09

C 1 2 N 15/00

A

C 1 2 P 21/08

5/00

B

(81) 指定国

EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ, UG), AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, C H, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, M N, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UZ, VN

【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成10年（1998）8月18日

【公表番号】特表平10—503758

【公表日】平成10年（1998）4月7日

【年通号数】

【出願番号】特願平8—503926

【国際特許分類第6版】

A61K 39/395

38/00

38/21

39/395

39/44

C12N 5/10

15/09

C12P 21/08

【F I】

A61K 39/395

E

D

T

N

39/44

C12P 21/08

A61K 37/66

Z

37/02

C12N 15/00

A

5/00

B

平成 9 年 12 月 19 日

特許庁長官 荒井 寿 光 殿



1. 事件の表示

平成 8 年特許願第 503926 号

PCT/US95/08222

2. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名 称 イムノメディクス、インコーポレイテッド

国 籍 アメリカ合衆国

3. 代理人 〒107

住 所 東京都港区赤坂 3 丁目 2 番 12 号

赤坂ノアビル 8 階

電話 03-3586-0108 (代表)

氏 名 (G006) 弁理士 奥 山 尚 男

(ほか 3 名)

4. 補正対象書類名

明細書、請求の範囲

5. 補正対象項目名

明細書、請求の範囲

6. 補正の内容

別紙のとおり。

(d) ヒト・モノクローナル抗体と、

(e) 類人猿長鎖抗体と、

(f) (a)、(b)、(c)、(d) または (e) に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる実施態様例 1 に記載の組成物。

5. 該抗体フラグメントが $F(ab')_2$ 、 $F(ab)_2$ 、 Fab' 、 Fab 、 Fv 、 sFv 、および最少認識単位からなる群から選ばれる実施態様例 4 に記載の組成物。

6. (c) 該第二のワクチンの投与前および投与中に投与するインターフェロニン

をさらに含む実施態様例 1 に記載の組成物。

7. (c) 該第二のワクチンの投与前および投与中に投与するインターロイキン 2

をさらに含む実施態様例 1 に記載の組成物。

8. (c) 該第二のワクチンの投与前および投与中に投与するインターロイキン 2 およびインターフェロニン

をさらに含む実施態様例 1 に記載の組成物。

9. (a) TAA または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶性の免疫原性タンパク質と複合しているワクチンと、

(b) 可溶性の免疫原性タンパク質とは複合していないが、TAA または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントとを含む組成物であって、

上記ワクチン (a) と、上記抗体又はその抗原結合性フラグメント (b) が哺乳動物に投与され、TAA を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答の誘導方法に使用する組成物。

10. 上記抗体又はその抗原結合性フラグメント (b) がビオチン化していて、

(c) 該ビオチン化抗体または該ビオチン化抗体フラグメントの希釈濃度を低下させるために投与するアビジン

補正の内容

(1) 特許請求の範囲を別紙のように補正する。

(2) 明細書第 33 頁第 24 行の後に、行を戻えて、下記を挿入する。

記

実施態様例

下記は、本発明の実施態様例である。

1. (a) 腫瘍関連抗原 (TAA) または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶性の免疫原性タンパク質と複合している第一のワクチンと、

(b) TAA のエピトープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分が可溶性の免疫原性タンパク質と複合している第二のワクチンとを含む組成物であって、

該第一のワクチンと該第二のワクチンが哺乳動物に投与され、TAA を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答の誘導方法に使用する組成物。

2. 上記第一のワクチン (a) の抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗体と、

(d) (a)、(b) または (c) に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる実施態様例 1 に記載の組成物。

3. 該抗体フラグメントが $F(ab')_2$ 、 $F(ab)_2$ 、 Fab' 、 Fab 、 Fv 、 sFv 、および最少認識単位からなる群から選ばれる実施態様例 2 に記載の組成物。

4. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

(a) ポリクローナル抗体と、

(b) マウス・モノクローナル抗体と、

(c) (b) に由来するヒト化抗体と、

をさらに含む実施態様例 9 に記載の組成物。

11. 上記ワクチン (a) が第二回投与される実施態様例 10 に記載の組成物。

12. (d) 該第二回のワクチン投与前および投与中に投与するインターフェロニン

をさらに含む実施態様例 11 に記載の組成物。

13. (d) 該第二回のワクチン投与前および投与中に投与するインターロイキン 2

をさらに含む実施態様例 11 に記載の組成物。

14. (d) 該第二回のワクチン投与前および投与中に投与するインターロイキン 2 およびインターフェロニン

をさらに含む実施態様例 11 に記載の組成物。

15. キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプター、又は、キメラ免疫グロブリン/CD3 タンパク質のいずれかをコードする DNA 分子を含む発現ベクターでトランスフェクトされた T 細胞を含む組成物であって、該 DNA 分子の免疫グロブリンをコードする部分は TAA または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体の可変部をコードし、

該 T 細胞は患者から得られ、該 DNA 分子で該 T 細胞をトランスフェクトして、トランスフェクトした T 細胞の増殖を刺激してトランスフェクトした T 細胞数を増加させ、細胞数の増加した該トランスフェクトした T 細胞を該患者に反転ことを特徴とする、TAA を発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者に体液性免疫応答及び細胞性免疫応答を誘導するための方法に使用する組成物。

16. (a) インターフェロニンおよびインターロイキン 2 からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種と、

(b) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3 タンパク質の免疫グロブリン部分と結合する抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性タンパク質と複合しているワクチンと

をさらに含む、

トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、該サイトカインと該ワクチンを投与する実施態様例15に記載の組成物。

17. (a) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合する抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合しているワクチン

をさらに含み、該ワクチンを該患者に投与する実施態様例15に記載の組成物。

18. キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたはキメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含む発現ベクターでトランスフェクトされたT細胞を含む組成物であって、該DNA分子の該免疫グロブリンをコードしている部分はTAAのエピトープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗体の可変部をコードし、

該T細胞は患者から得られ、該DNA分子でT細胞をトランスフェクトして、トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激してトランスフェクトしたT細胞数を増加させ、細胞数の増加した該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻すことを特徴とする、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者に体液性免疫応答及び細胞性免疫応答を誘導するための方法に使用する組成物。

19. (a) インターフェロン α およびインターロキン2からなる群から選ばれるサイトカインのうち少なくとも一種と、

(b) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合する抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合しているワクチンと

をさらに含み、トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻した後、該サイトカインと該ワクチンを投与する実施態様例18に記載の組成物。

20. (a) 該キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプターまたは該キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質の免疫グロブリン部分と結合している抗体成分を含み、該抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合しているワクチン

Fv、sFv、および最少認識単位からなる群から選ばれる実施態様例25に記載の組成物。

27. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分が可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している第一のワクチンと、

(b) 可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントと、

(c) 該TAAのエピトープまたは感染性生物抗原のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している第二のワクチンと

を含む組成物であって、

該第一のワクチンと、該抗体又はそのフラグメントと、及び該第二のワクチンとを哺乳動物に投与することと特徴とする、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答の誘導方法に使用する組成物。

28. 上記第一のワクチン(a)がクラスIII抗CEA抗体を含み、上記抗体(b)がクラスII抗CEA抗体であり、上記第二のワクチン(c)がクラスII抗CEA抗体の可変部と結合する抗体を含む実施態様例27に記載の組成物。

29. CD3タンパク質に結合する部分と、CEAに結合する部分を含む二重特異性抗体を含み、該CEA結合部分はクラスII抗CEA抗体に由来する組成物であって、該二重特異性抗体を患者に投与することと特徴とする、CEAを発現する腫瘍を持つ患者を治療するために使用する組成物。

をさらに含み、該ワクチンを該患者に投与する実施態様例18に記載の組成物。

21. 製薬的に許容できる担体と、可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している治療有効量の抗腫瘍性抗原(CPA)抗体成分とを含む、該腫瘍性抗原(CEA)を発現する腫瘍を持つ患者の治療用キットの形となっている組成物。

22. 該抗CEA抗体成分が、

(a) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体と、

(b) マウス・モノクローナル・クラスIII抗CEA抗体に由来するヒト化抗体と、

(c) ヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、

(d) (a)、(b)または(c)に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる実施態様例21に記載の組成物。

23. 該抗体フラグメントがF(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、sFv、および最少認識単位からなる群から選ばれる実施態様例22に記載の組成物。

24. 製薬的に許容できる担体と、可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している治療有効量の抗イディオタイプ抗体成分とを含み、該抗イディオタイプ抗体成分がCEAのエピトープとよく似ている、CEAを発現する腫瘍を持つ患者の治療用キットの形となっている組成物。

25. 該抗イディオタイプ抗体成分が、

(a) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するポリクローナル抗体と、

(b) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するモノクローナル抗体と、

(c) (b)に由来するヒト化抗体と、

(d) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合する類人霊長類抗体と、

(e) クラスIII抗CEA抗体の可変部と結合するヒト・モノクローナル抗CEA抗体と、

(f) (a)、(b)、(c)、(d)または(e)に由来する抗体フラグメントと

からなる群から選ばれる実施態様例24に記載の組成物。

26. 該抗体フラグメントがF(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、

請求の範囲

1. 第一のワクチンと、第二のワクチンと抗体またはその抗原結合性フラグメントとからなる群から選択される少なくとも一の試薬とを含む組成物であって、

(a) 該第一のワクチンは、腫瘍関連抗原(TAA)または感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している、

(b) 該第二のワクチンは、TAAのエピトープまたは該感染性生物のエピトープによく似る抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性抗体タンパク質と複合している、

(c) 該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、可溶性の免疫原性抗体タンパク質とは複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合し、

TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物の体液性免疫応答および細胞性免疫応答を誘導する方法に使用するための組成物であって、

(i) 上記(a)第一のワクチンと上記(b)第二のワクチン、

(ii) 上記(a)第一のワクチンと上記(c)抗体またはその抗原結合性フラグメント、

(iii) 上記(a)第一のワクチンと、上記(b)第二のワクチンと、上記(c)抗体またはその抗原結合性フラグメントのいずれかを哺乳動物に投与する組成物。

2. キメラ免疫グロブリン/T細胞レセプター、又は、キメラ免疫グロブリン/CD3タンパク質のいずれかをコードするDNA分子を含む発現ベクターでトランスフェクトされたT細胞を含む組成物であって、該DNA分子の免疫グロブリンをコードする部分と

(i) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体の可変部、または、

(ii) TAAのエピトープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似る抗体の可変部

のいずれかをコードし、

・該T細胞は患者から得られ、該cDNA分子で該T細胞をトランスフェクトして、トランスフェクトしたT細胞の増殖を刺激してトランスフェクトしたT細胞数を増加させ、細胞数の増加した該トランスフェクトしたT細胞を該患者に戻すことを特徴とする、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する患者に体液性免疫応答及び細胞性免疫応答を誘導するための方法に使用するための組成物。

3. 癌胎児性抗原(CEA)を発現する腫瘍を持つ患者を治療するためのキットの形となっている組成物であって、

(i) 製薬的に許容できる担体、および、可溶性の免疫原性担体タンパク質と複合している治療有効量の抗CEA抗体成分、

(ii) 製薬的に許容できる担体、および、可溶性の免疫原性担体タンパク質と複合していて、CEAのエピトープとよく似た治療有効量の抗イディオタイプ抗体成分

から成る群から選択される組成物。

4. (a) TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体成分を含み、該抗体成分は可溶性の免疫原性担体タンパク質と複合している第一のワクチンと、

(b) 可溶性の免疫原性担体タンパク質とは複合していないが、TAAまたは感染性生物に関連する抗原と結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントと、

(c) 該TAAのエピトープまたは感染性生物に関連する抗原のエピトープによく似た抗イディオタイプ抗体成分を含み、該抗イディオタイプ抗体成分は可溶性の免疫原性担体タンパク質と複合している第二のワクチンと

を含む組成物であって、

該第一のワクチンと、該抗体またはその抗原結合性フラグメントと、該第二のワクチンとを哺乳動物に投与することを特徴とする、TAAを発現する腫瘍または感染性生物に起因する疾患に対する哺乳動物に体液性免疫応答及び細胞性免疫応答を誘導するための方法に使用するための組成物。

5. CD3タンパク質に結合する部分と、CEAに結合する部分とを含む二重特異性抗体を含み、該CEA結合部分はクラスⅡ抗CEA抗体に由来する組成物であって、該二重特異性抗体を患者に投与することを特徴とする、CEAを発現

する腫瘍を持つ患者の治療方法に使用するための組成物。